



## Glykohämoglobin: ein neu interpretierter diagnostischer Marker für Diabetes

Michel F. Rossier, R. Riand-Voide, N. Beloëil, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

### Einleitung

Glykohämoglobin (oder HbA1c) ist ein Hämoglobin, an welches am N-Terminal Ende seiner Untereinheit  $\beta$  permanent und auf nicht enzymatische Weise ein Glucose-Molekül gebunden ist. Diese irreversible Veränderung ist das Ergebnis der glykierten Sättigung der Erythrozyten während der letzten drei Monate und widerspiegelt das Risiko für klinische Komplikationen des Diabetes mellitus. Dieser biochemische Marker wird seit Jahrzehnten in der therapeutischen Überwachung des Diabetes benutzt. Erst seit kurzem wird jedoch seine Nutzung zu diagnostischen Zwecken angeregt. Es ist deshalb besonders relevant, die analytischen Grenzen, die mit jeder Bestimmungsmethode verbunden sind, und die Risiken im Zusammenhang mit den Unsicherheiten der Messung zu überdenken.

### Bestimmungsmethoden des Hämoglobins A1c und Grenzen

Der Hämoglobinwert A1c kann anhand drei verschiedener analytischer Systeme festgestellt werden: 1) chromatographische Methoden (in Abhängigkeit zur Belastung der Glukose durch oder die Affinität zu Bor), 2) elektrophoretische Methoden oder 3) immunologische Methoden. Die Variabilität zwischen den Laboratorien war lange ein Hindernis für die Nutzung dieses Markers, bevor ein Standardisierungsprogramm (NGSP) eingesetzt wurde, das den Vergleich der durch verschiedene Techniken erhaltenen Ergebnisse und somit Empfehlungen für therapeutische Zwecke ermöglicht. Vor kurzem hat die IFCC auf der Grundlage der Masse von HbA1c eine Referenzmethode entwickelt, mit der aufgezeigt wird, dass sämtliche bisher eingesetzten Techniken die Konzentration des Analyten bedeutend überschätzen. Aufgrund dieser Erkenntnisse ist eine Standardisierung eingeführt worden. Zur Vermeidung von Verwechslungen wird auch heute noch das exakte Ergebnis von HbA1c (IFCC) in mmol/mol dargestellt, während das «konventionelle» rückverfolgbare Ergebnis aufgrund der Empfehlungen der ersten Studien (NGSP) immer noch in % des gesamten Hämoglobins angegeben wird.

Die Sensibilität betreffend Interferenzen variiert, insbesondere bei Anwesenheit von Hämoglobinopathien, von einer Methode zur anderen. Tatsächlich existieren über tausend verschiedene Varianten von Hämoglobin mit sehr variablen Prävalenzen. Mit den immunologischen Methoden kann im Gegensatz zu den Methoden auf der Grundlage von Belastungen (HPLC oder Elektrophorese) die Anwesenheit dieser Varianten im Allgemeinen nicht nachgewiesen werden. In gewissen Fällen, wie zum Beispiel bei der Anwesenheit von punktuellen Mutationen auf der Untereinheit  $\beta$  (HbS oder HbE), hat das keine Auswirkungen auf die Bestimmung des HbA1c-Werts. Bei üblich hohen Werten von HbA2 oder von fötalem Hb (bei denen die Untereinheit  $\beta$  entweder durch die Untereinheit  $\delta$  oder  $\gamma$  ersetzt wird), liegt der Wert von HbA1c in Bezug auf das gesamte Hb anormal tief.

Andere pathophysiologische Situationen können, unabhängig von der benutzten analytischen Methode, bei der Nutzung des HbA1c ebenfalls zu Fehlern führen. Es handelt sich um sämtliche Situationen, bei denen die Halbwertszeit der Erythrozyten und folglich deren glykierte Sättigung betroffen ist (wie bei der intravaskulären Hämolyse oder der Bluttransfusion). Bei Niereninsuffizienz und Hyperurämie kann die Carbamylierung der Untereinheit  $\beta$  ebenfalls zu HbA1c-Werten führen, welche nicht die reale Glykämie widerspiegeln.

### Analytische Empfehlungen

Die deutliche Verbesserung der analytischen Qualität der Messung des HbA1c, insbesondere ihre Präzisierung (CV < 3%), hat die Nutzung dieses Markers zu diagnostischen Zwecken ermöglicht. So sind die Grenzwerte für Diabetes und potenziellen Diabetes folgendermassen definiert worden:

HbA1c	Normal	Potenzieller Diabetes	Diabetes
IFCC (mmol/mol)	< 42	42 - 47	> 47
NGSP (%)	< 6	6 - 6.4	> 6.4

Trotzdem muss daran erinnert werden, dass diese Werte nicht für die Diagnose des Gestationsdiabetes oder Diabetes I geeignet sind, sondern an das Alter (>70 Jahre) angepasst werden müssen.

Um feststellen zu können, ob ein analytisches System geeignet ist, muss dessen Leistung in der Nähe der entscheidenden Konzentrationen (rund 50 mmol/mol) definiert werden. Die Empfehlungen der analytischen Leistung werden gegenwärtig von einer Arbeitsgruppe der IFCC untersucht. In einem sigma-metrischen Ansatz [1] beginnt man mit der Definition des zulässigen Gesamtfehlers (das Ziel) und der zulässigen Ausfallrate (nicht konforme Ergebnisse).

Ein minimalistischer Ansatz für das HbA1c mit dem Ziel einer Diagnose besteht in der Festlegung des tolerierten Höchstfehlers von 5 mmol/mol (die

Grösse der Grauzone, welche dem potenziellen Diabetes entspricht) und der tolerierten Ausfallrate von 5% (2 Sigma). Der Gesamtfehler der Messung setzt sich aus zwei kombinierten Faktoren zusammen: der systematischen Abweichung der Methode (Ungenauigkeit) und ihrer fehlenden Reproduzierbarkeit (fehlende Präzision). Da diese beiden Faktoren für eine bestimmte Methode charakteristisch sind, ist es möglich, auf derselben Grafik verschiedene Techniken zu vergleichen und festzustellen, welche mit den vordefinierten Toleranzen (Abb. 1) übereinstimmen. Allerdings muss in den kommenden Jahren aufgrund der verbesserten analytischen Methoden mit strengeren Empfehlungen gerechnet werden.

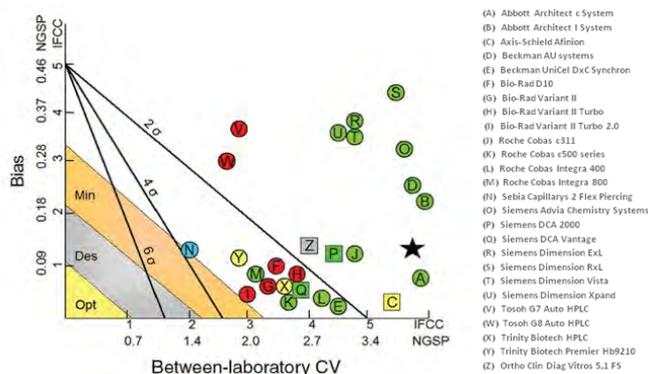


Abb.1: Analytische Leistung verschiedener Systeme zur Messung des HbA1c, die gemäss [1] auf dem Markt verfügbar sind. Die Position jeder Methode wird definiert durch die fehlende Präzision (CV) und die durchschnittliche Abweichung, welche 2014 anlässlich einer Methodenvergleichsmessung in den USA mit einer Probe von einer Konzentration von 48 mmol/mol (n=3277) festgelegt worden sind. Die Methoden unterhalb der Linie von 2 Sigmas gelten gegenwärtig als konform für die Diagnose des Diabetes. Die Farben geben das Prinzip der Methode an.

### Unsicherheiten in den Messungen und falsch positive Ergebnisse

Wenn ein Marker für diagnostische Zwecke gemessen wird, ist es wichtig, ein geeignetes System zu verwenden, insbesondere für Krankheiten mit einer Prävalenz wie dem Diabetes. Diese Bedeutung ist für die Glykämie bekannt (man darf nicht auf der Grundlage eines Ergebnisses eines Blutzuckermessgeräts eine Diabetesdiagnose stellen). Für das HbA1c ist das jedoch noch nicht der Fall. Mehrere Studien haben die Auswirkungen der Unsicherheiten der Messungen des HbA1c auf die Inzidenz eines diagnostizierten Diabetes aufgezeigt [1,2]. Wenn zum Beispiel die fehlende Präzision des Tests von 2.7 auf 3.7% (CV) ansteigt, kann erwartet werden, dass die Inzidenz eines Diabetes beim Screening um 90% erhöht ist. Auf der anderen Seite können gewisse Hämoglobinopathien mit der patientennahen Labordiagnostik (POCT) nicht nachgewiesen werden, was die Interpretation des Ergebnisses des HbA1c verfälschen kann.

Deshalb hat das Laboratorium des ZIS vor kurzem beschlossen, seine analytischen Methoden zur Festlegung des HbA1c zu ergänzen. Neben den immunologischen Techniken (K und L in Abb. 1), welche üblicherweise bei der therapeutischen Überwachung des Diabetes eingesetzt werden, wird im Rahmen der Diagnose jetzt auch eine elektrophoretische Methode (N) angewendet. In dieser Situation wird eine allfällige interferierende Hämoglobinopathie durch eine kapilläre Elektrophorese systematisch ausgeschlossen. Dieser erste Wert des HbA1 wird anschliessend über eine zweite Entnahme mit einem Immunoassay-Verfahren bestätigt. Wenn keine Interferenz vorliegt, sind beide Methoden absolut gleichwertig und liefern dieselben Ergebnisse. Beim Vorliegen einer Hämoglobinopathie wird der Patient mit der neuen Methode überwacht.

### Präanalytik und Tarif

	Méthodes	Pos. BSV	Punkte
HbA1c (Nachkontrolle)	Immunologisch (Tina-Q)	1363.00	17.8
HbA1c (Diagnose)	kapilläre Elektrophorese	1363.00	17.8

### Literatur

- [1] Weykamp, et al. (2015), Clin Chem 61:752
- [2] Nielsen, et al. (2014), Clin Chem Lab Med 52:1069

### Kontaktpersonen

PD Dr. Michel F. Rossier  
Nicole Beloëil

michel.rossier@hopitalvs.ch  
nicole.beloëil@hopitalvs.ch